



## Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum*) terhadap Ekspresi TNF-A pada Tikus Diabetes Melitus Gestasional

Muhammad Faisal Rachman<sup>1</sup>, Hirowati Ali<sup>2</sup>, Siti Nurhajjah<sup>3</sup>

<sup>1</sup> S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

<sup>2</sup> Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

<sup>3</sup> Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

### ABSTRACT

#### Abstrak

**Latar Belakang:** Jumlah penderita diabetes melitus gestasional terus meningkat di seluruh dunia. Kondisi hiperglikemia yang terjadi pada masa kehamilan dapat memicu terjadinya stress oksidatif yang dapat menstimulasi peningkatan ekspresi *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α). Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) mengandung zat antidiabetes dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektifitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap ekspresi TNF-α pada tikus model diabetes melitus gestasional.

**Objektif:** Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap ekspresi TNF-α pada tikus model diabetes melitus gestasional.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *post test only control group design*. Sampel penelitian menggunakan bahan biologis tersimpan dari RNA tikus yang telah diinduksi streptozotocin 40 mg/KgBB sebagai animal model DMG pada manusia yang disimpan di Lab Biomedik FK Unand.

**Hasil:** Ekspresi TNF-α pada kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan satu dan perlakuan dua berturut-turut adalah 1,01, 1,06, 0,95, dan 0,61.

**Kesimpulan:** Menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap ekspresi TNF-α pada tikus model diabetes melitus gestasional.

**Kata kunci:** Daun Kemangi, Diabetes Melitus Gestasional, TNF-α.

#### Abstract

**Background:** The number of people with gestational diabetes mellitus continues to increase worldwide. Hyperglycemia conditions that occur during pregnancy can trigger oxidative stress which can increase *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α) expression. Basil (*Ocimum basilicum*) are one of the herbal plants that contain antidiabetic and antioxidant substances. This study aims to examine the effectiveness of basil (*Ocimum basilicum*) extract on TNF-α expression in gestational diabetes mellitus rats.

**Objective:** This study aims to examine the effectiveness of basil (*Ocimum basilicum*) extract on TNF-α expression in gestational diabetes mellitus rats.

**Methods:** This research is an experimental study using the post test only control group design method. The research sample used stored biological material from rat RNA that had been induced by streptozotocin 40 mg/kgBB as an animal model of DMG in humans stored in the Biomedical Lab, FK Unand.

**Results:** TNF-α expression in the negative control, positive control, treatment one, and treatment two were 1.01, 1.06, 0.95, and 0.61, respectively.

**Conclusion:** Showed the effect of administration of basil leaf extract (*Ocimum basilicum*) on TNF-α expression in gestational diabetes mellitus model rats.

**Keywords:** Basil, Gestational Diabetes Mellitus, TNF-α.

#### Apa yang diketahui tentang topik ini?

Ekstrak kemangi (*Ocimum basilicum*) dapat menurunkan kadar gula dalam darah dan mengandung antioksidan seperti Flavonoid yang dapat mencegah peningkatan radikal bebas yang berdampak pada peningkatan respon inflamasi dan peningkatan TNF-α.

#### Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Ekspresi TNF-α berbanding lurus dengan kadar gula dalam darah saat dilakukan penelitian menggunakan PCR Konvensional di Labor Biomedik FK Unand.

#### CORRESPONDING AUTHOR

Phone: +6282269681503

E-mail: mfaisalrachman13@gmail.com

#### ARTICLE INFORMATION

Received: April 5<sup>th</sup>, 2022

Revised: June 12<sup>th</sup>, 2023

Available online: September 19<sup>th</sup>, 2023

## Pendahuluan

Angka kejadian diabetes terus meningkat di seluruh dunia. Penyakit ini merupakan penyebab dari beberapa penyakit kronik seperti stroke, penyakit jantung, gangguan ginjal, gangguan penglihatan dan berbagai penyakit lainnya. Pada ibu hamil, kondisi diabetes yang dialami oleh ibu dan bayi, yaitu kelahiran prematur, preeklamsia, meningkatnya risiko mengalami diabetes saat dewasa dan lain sebagainya. *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan terdapat 20,4 juta pada tahun 2019 mengalami kondisi hiperglikemia dalam kehamilan, yang mana 83,6% disebabkan oleh Diabetes Melitus Gestasional (DMG).<sup>1</sup> Diabetes Melitus Gestasional adalah kondisi di mana wanita tanpa diagnosis diabetes sebelumnya menunjukkan kadar glukosa darah yang tidak normal selama kehamilan. Hiperplasia sel  $\beta$  pankreas terjadi dari stimulasi laktogen plasenta manusia pada kehamilan normal yang mengakibatkan kadar insulin lebih tinggi. Ketidakmampuan untuk mengatasi resistensi insulin pada kehamilan meskipun terjadi hiperplasia sel  $\beta$  menyebabkan DMG.<sup>2</sup>

Keadaan hiperglikemia pada masa kehamilan dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Sumber stres oksidatif terjadi karena peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa yang menyebabkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Oksidan yang terbentuk dapat menyebabkan aktivasi *Poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP) melalui pemecahan DNA. Aktivasi PARP ini akan berakibat inhibisi terhadap *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) dan mengakibatkan peningkatan jalur poliol dan heksosamin. Peningkatan jalur tersebut dapat menyebabkan peningkatan glikasi non enzimatis, produksi *Advanced Glycation End-products* (AGEs) yang berlebihan, stres oksidatif, dan sintesis *diacylglycerol* (DAG) yang nantinya akan mengaktifkan *Protein Kinase C* (PKC). PKC yang teraktivasi ini akan mengaktifkan *Nuclear Factor Kappa B* (NF $\kappa$ B) untuk menstimulasi gen pro-inflamasi untuk mengeluarkan mediator inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ).<sup>3,4</sup>

Peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$  berbanding lurus dengan kondisi hiperglikemia, dibuktikan dalam kultur sel mononuklear darah perifer yang diinkubasi pada media berkadar glukosa tinggi

menunjukkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$ . Beberapa penelitian *in vitro* lainnya juga menunjukkan bahwa glukosa dapat memicu peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$ . Peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$  berperan penting terhadap kerusakan vaskuler, resistensi insulin, dan atherogenesis.<sup>5</sup>

Terapi DMG pada umumnya sama dengan terapi pada diabetes melitus, tetapi sampai saat ini pada penggunaan obat oral untuk DMG tidak direkomendasikan karena masih terdapat kontroversi terkait efek obat yang dapat melewati sawar plasenta dan dapat mempengaruhi janin.<sup>6</sup> *Food and Drug Administration* (FDA) di Inggris dan United States juga tidak merekomendasikan terkait penggunaan obat oral untuk penderita DMG karena ada efek samping jangka panjang bagi janin seperti kelahiran makrosomia dan risiko obesitas pada saat dewasa, sehingga pemilihan obat alternatif dari tanaman herbal yang memiliki efek jauh lebih rendah dibandingkan obat-obatan kimia untuk penderita DMG dapat menjadi alternatif pilihan lain.<sup>7,8</sup>

Penggunaan tanaman kemangi sebagai obat alternatif antidiabetes telah banyak diuji salah satunya penelitian Amrani dkk yang mengatakan bahwa dapat mengatasi kondisi hiperglikemia. Pada penelitian lain Menurut Ezeani dkk, Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dilaporkan dapat memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan glukosa darah.<sup>9</sup> Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid berperan dalam peningkatan sekresi insulin di sel  $\beta$  pankreas yang juga mencegah kerusakan sel  $\beta$  pankreas karena memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang bekerja dengan cara menangkap atau menetralkan radikal bebas yang terkait dengan gugus *Nitric Oxide* (NO) sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak. Saponin bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin di sel  $\beta$  pankreas, meningkatkan uptake glukosa, dan menghambat penyerapan glukosa di dalam usus halus. Tanin bekerja sebagai antihiperglikemia dengan cara meningkatkan glikogenesis serta berfungsi sebagai adstringen yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga menghambat

penyerapan glukosa dan pada akhirnya akan menurunkan kadar glukosa darah.<sup>10</sup> Penulis belum menemukan publikasi yang melihat ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model DMG setelah pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*). Berdasarkan masalah dan latar belakang di atas, penulis tertarik untuk melihat apakah ada pengaruh pada ekspresi TNF- $\alpha$  yang diberikan ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) pada tikus model DMG.

**Metode**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan dengan menggunakan metode *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2021 – Januari 2022.

Populasi dan sampel penelitian menggunakan bahan biologis tersimpan dari RNA tikus yang telah diinduksi streptozotocin 40 mg/KgBB sebagai animal model DMG pada manusia yang disimpan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Besar sampel menggunakan rumus federer:

$$\{(n-1) (t-1)\} \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok, = 4

Jumlah sampel pada setiap kelompok adalah 6 serum, sehingga total sampel pada penelitian ini adalah 24 sampel. Kriteria inklusi: RNA dengan konsentrasi  $\geq 500$  ng/ $\mu$ l dan RNA dengan purifikasi A260/280  $\leq 2$ . Kriteria eksklusi: RNA yang terkontaminasi.

Penelitian ini sudah mendapat izin etik. Nomor izin kaji etik pada penelitian ini adalah No: 603/UN.16.2/KEP-FK/2021 dan institusi yang mengeluarkan no izin kaji etik penelitian ini adalah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

**Hasil**

**Analisis Kemurnian RNA**

Nilai kemurnian RNA didapatkan dari hasil rasio absorbansi A260/A280. Kemurnian RNA dikatakan memiliki tingkat kemurnian 100% jika nilai absorbansi  $\pm 1,8-2,0$ .<sup>11</sup> Hasil pemeriksaan kemurnian RNA diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Uji Kemurnian dan Konsentrasi Larutan RNA pada sampel menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Sampel	Rerata Kemurnian (A260/A280)	Rerata Konsentrasi (ng/ $\mu$ l)
K-1	2	1379,1
K-2	2,1	2218,5
K-3	2,1	1726,1
K-4	2,2	956,6
K-5	2,1	1240,5
K-6	2	1049,5
K+1	2,3	1487,0
K+2	2,2	2010,4
K+3	2,1	2033,0
K+4	2,1	1760,1
K+5	2,2	2127,3
K+6	2,3	924,8
P1.1	2	3200,7
P1.2	2,1	1757,6
P1.3	2,1	1074,1
P1.4	2,1	3819,8
P1.5	2,2	1188,3
P1.6	2	2386,4
P2.1	2	1484,0
P2.2	2,1	2156,1
P2.3	2,1	1939,8
P2.4	2,1	921,3
P2.5	2,1	3548,0
P2.6	2,1	1694,0

Hasil pengukuran absorbansi pada Panjang gelombang 260/280 nm memperlihatkan hasil yang beragam, namun secara menyeluruh RNA yang digunakan itu murni karena nilai rasio A260/A280 masih dalam rentang 1,8 - 2,0 walaupun ada beberapa yang sedikit melebihi, namun masih dalam rentang rerata rasio murni. Proses amplifikasi fragmen RNA primer yang akan diteliti yaitu gen TNF- $\alpha$  dan gen GAPDH sebagai *Housekeeping gene*.

**Ekspresi TNF- $\alpha$**

Penilaian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui apakah bermakna atau tidaknya perbedaan rasio ekspresi TNF- $\alpha$  pada setiap kelompok. Hasil uji ekspresi TNF- $\alpha$  sebagai berikut:

Tabel 2. Rerata ekspresi TNF- $\alpha$  tikus model DMG yang diberikan perlakuan ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*)

Kelompok	N	Kadar TNF- $\alpha$ (Rerata $\pm$ SD)	Nilai p
K(-)	6	1,01 $\pm$ 0,18	<0.001
K(+)	6	1,06 $\pm$ 0,10	
P1	6	0,95 $\pm$ 0,13	
P2	6	0,61 $\pm$ 0,09	

Ket: P1: Pemberian ekstrak kemangi dosis 100 mg/kgBb  
P2: Pemberian ekstrak kemangi dosis 200 mg/kgBb

Hasil pengujian menunjukkan rasio ekspresi TNF- $\alpha$  pada semua kelompok penelitian memiliki nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ) setelah pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/KgBB, dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna terjadi pada semua kelompok hewan coba.

Untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  perlu dilakukan uji lanjut dengan uji *Post Hoc* perbandingan *Bonferroni* dengan hasil pada tabel berikut.

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok penelitian

Kelompok	K(-)	K(+)	P1	P2
K(-)	-	1,000	1,000	0,000*
K(+)	1,000	-	0,937	0,000*
P1	1,000	0,937	-	0,000*
P2	0,000*	0,000*	0,002*	-

\*: menerangkan hasil yang signifikan

Dari hasil uji lanjut *Bonferroni* pada tabel diatas dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P1 namun tidak signifikan dan antara kelompok kontrol positif dengan P2 mengalami penurunan yang signifikan.

## Pembahasan

### Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) Dosis 100 mg/kgBB terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ Pada Tikus Model Diabetes Melitus Gestasional

Berdasarkan hasil analisis terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dengan dosis 100 mg/kgBB terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model diabetes melitus gestasional. Hasil penelitian ini menunjukkan rasio rerata penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dosis 100 mg/kgBB sebesar 0,95 mg/dL dibanding rasio rerata kelompok kontrol positif sebesar 1,06 mg/dL. Hasil analisis tersebut mengalami penurunan rerata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan 1. Hasil tersebut menunjukkan adanya perbedaan ekspresi TNF- $\alpha$  setelah pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*).

Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) yang memiliki senyawa flavonoid yang dapat menekan aktivitas NO sehingga menghambat ekspresi TNF- $\alpha$ .

*Nitric Oxide* merupakan radikal bebas yang dapat berdifusi secara bebas dan mempunyai jumlah elektron ganjil sehingga dapat berikatan dengan molekul lain seperti oksigen, superoksida dan logam transisi.<sup>12</sup> Produksi NO yang berlebihan dapat meningkatkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan memberikan efek apoptosis pada berbagai sel serta terlibat dalam patogenesis penyakit termasuk komplikasi diabetes.

*Nitric Oxide* dapat bereaksi dengan anion superoksida dan membentuk oksidan peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>). Peroksinitrit adalah senyawa oksidan tinggi sehingga dapat merusak molekul protein, DNA, dan lipid. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan disfungsi endotel dan penyakit seperti hipertensi, hiperkolesterolemia, hiperglikemia dan diabetes. Kondisi hiperglikemia menyebabkan adanya peningkatan produksi superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) yang juga terlibat dalam proses stress oksidatif.<sup>13,14</sup> Kemangi mempunyai kemampuan untuk membersihkan NO dengan baik, yang membuatnya sangat bermanfaat untuk melindungi jaringan terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh oksidan peroxynitrit.<sup>15</sup>

Ekspresi TNF- $\alpha$  terdapat pada makrofag dan monosit. TNF- $\alpha$  berperan dalam meregulasi banyak proses seluler yang penting. TNF- $\alpha$  juga berperan dalam pengembangan kondisi resistensi insulin sehingga dapat menurunkan ekspresi *transporter glukosa tipe 4* (GLUT-4) yang merupakan transporter glukosa sehingga dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin pada jaringan adiposa dan jaringan perifer.<sup>16</sup>

Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) mengandung banyak senyawa bioaktif seperti flavonoid.<sup>17</sup> Kondisi ini sejalan dengan penelitian El-Beshbishy dkk yang menjelaskan bahwa senyawa dominan yang terdapat pada ekstrak kemangi adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dan tanin bekerja sebagai antihiperglikemia dengan cara meningkatkan glikogenesis serta berfungsi sebagai astringen yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga menghambat

penyerapan glukosa dan pada akhirnya akan menurunkan kadar glukosa darah.

Literatur lain menyebutkan bahwa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun kemangi dapat bertindak sebagai pembersih NO, superoksida, dan peroksinitrit dengan kuat, sehingga mencegah kerusakan sel akibat peningkatan radikal bebas yang berdampak pada peningkatan berbagai sitokin inflamasi seperti TNF- $\alpha$ .<sup>13</sup>

### **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) Dosis 200 mg/kgBB terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ Pada Tikus Model Diabetes Melitus Gestasional**

Hasil penelitian ini menunjukkan rasio rerata penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dosis 200 mg/kgBB sebesar 0,61 mg/dL dibanding rasio rerata kelompok kontrol positif sebesar 1,06 mg/dL. Hasil analisis tersebut mengalami penurunan rerata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan 2. Hasil tersebut menunjukkan adanya perbedaan ekspresi TNF- $\alpha$  setelah pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*).

Kondisi ini kemungkinan disebabkan oleh karena pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) yang tidak hanya mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan untuk menghambat dan menghentikan sintesis dari radikal bebas yang akan memicu kerusakan DNA, namun juga sebagai antihiperглиkemia yang dapat memicu peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$ .

Kondisi hiperglikemia dalam darah dapat meningkatkan produksi superoksida di mitokondria dan peningkatan NO di makrofag. Produksi superoksida dan NO yang berlebihan dapat menyebabkan pembentukan oksidan kuat seperti peroksinitrit yang dapat merusak DNA.<sup>13</sup>

Hal tersebut sejalan dengan penelitian Ezeani dkk bahwa pemberian ekstrak daun kemangi dosis 100 dan 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan pada tikus model diabetes melitus tipe 2.<sup>9</sup> Hal ini disebabkan oleh karena ekstrak daun kemangi mengandung senyawa yang dapat memperbaiki keseimbangan glukosa melalui penghambatan pencernaan dan absorpsi karbohidrat gastrointestinal, penuruan insulin dan sifat kepekaan insulin, tanpa risiko toksisitas.

### **Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model diabetes melitus gestasional, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kemangi dosis 100 dan 200 mg/KgBB dapat mempengaruhi ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model diabetes melitus gestasional.

### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah berperan mendukung penelitian ini.

### **Daftar Pustaka**

1. Atlas IDF. International diabetes federation. Vol 266.; 1955.
2. Mack LR, Tomich PG. Gestational diabetes: diagnosis, classification, and clinical care. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2017;44(2):207-17. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.002
3. Setiawan B, Suhartono E. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus oxidative stress and the roles of antioxidant in diabetes melitus. *Maj Kedokt Indon.* 2005;55.
4. Shita ADP. Perubahan level TNF- $\alpha$  dan IL-1 pada kondisi diabetes melitus. Prosiding Dentistry Scientific Meeting II, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas JEMBER. 2015;(1):1-7.
5. Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Letters.* 2006;580(12):2917-21. doi: 10.1016/j.febslet.2006.04.028
6. Sivak HD, Pérez A, Diaz-Alonso J. Screening effects in relativistic models of dense matter at finite temperature. *Prog Theor Phys.* 2001;105(6):961-78. doi: 10.1143/PTP.105.961
7. Lende M, Rijhsinghani A. Gestational diabetes: overview with emphasis on medical management. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(24):1-12. doi: 10.3390/ijerph17249573
8. Hunt KF, Whitelaw BC, Gayle C. Gestational diabetes. *Obstet Gynaecol Reprod Med.* 2014;24(8):238-44.
9. Ezeani C, Ezenyi I, Okoye T, Okoli C. *Ocimum basilicum* extract exhibits antidiabetic effects via inhibition of hepatic glucose mobilization and carbohydrate metabolizing enzymes. *J Intercul Ethnopharmacol.* 2017;6(1):22-8. doi: 10.5455/jice.20161229054825
10. Gide A. Uji aktivitas jamu gendong kunyit asam (*Curcuma domestica* Val.; *Tamarindusindica* L.) sebagai anti diabetes pada tikus yang diinduksi streptozotocin. *Angewandte Chemie International Edition,* 6(11), 951-2. Published online 1967:5-24.
11. Pratiwi E, Ilham Widodo L, Penelitian dan pengembangan biomedis dan teknologi dasar kesehatan p, penelitian dan pengembangan kesehatan

- b, kesehatan k, kunci k. kuantifikasi hasil ekstraksi gen sebagai faktor kritis untuk keberhasilan pemeriksaan RT-PCR. *Indonesian Journal for Health Sciences*.2020;4(1):1-9.
12. Stewart L, Katial RK. Exhaled nitric oxide. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2012;32(3):347-62. doi: 10.1016/j.iac.2012.06.005
  13. Tanaka T, Takahashi R. Flavonoids and asthma. *Nutrients*. 2013; 5(6): 2128-43. doi: 10.3390/nu5062128
  14. Sugimura Y, Murase T, Oyama K, et al. Prevention of neural tube defects by loss of function of inducible nitric oxide synthase in fetuses of a mouse model of streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2009; 52(5):962-71. doi: 10.1007/s00125-009-1312-0
  15. Kavooosi G, Amirghofran Z. Chemical composition, radical scavenging and anti-oxidant capacity of ocimum basilicum essential oil. *J Essent Oil Res*. 2017;29(2):189-99. doi: 10.1080/10412905.2016.1213667
  16. Rofifah D. Perbedaan kadar tumor necrosis factor-alfa antara diabetes melitus tipe 2 terkontrol dengan tidak terkontrol. Paper Knowledge Toward a Media History of Documents. Published online 2020:12-26.
  17. Sestili P, Ismail T, Calcabrini C, et al. The potential effects of ocimum basilicum on health: a review of pharmacological and toxicological studies. *Expert Opin Drug Metab and Toxicol*. 2018;14(7):679-92. doi: 10.1080/17425255.2018.1484450